



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA  
Departamento de Química

## Evaluación de los niveles de biocidas antiincrustantes en puertos y marinas de la isla de Gran Canaria. Distribución espacial y temporal.

Álvaro Sánchez Rodríguez

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

Julio 2010



## 1 Introducción

- Compuestos antiincrustantes
- Técnicas de extracción y determinación
- Objetivos



## 1 Introducción

- Compuestos antiincrustantes
- Técnicas de extracción y determinación
- Objetivos

## 2 Experimental

- Aparatos
- Muestreo



## 1 Introducción

- Compuestos antiincrustantes
- Técnicas de extracción y determinación
- Objetivos

## 2 Experimental

- Aparatos
- Muestreo

## 3 Resultados y discusión

- Aguas
  - Optimización de una metodología mediante SPE
  - Determinación de biocidas en muestras agua de mar
- Sedimentos
  - Optimización de una metodología mediante MAE-SPE
  - Determinación de biocidas en muestras de sedimentos marinos



## 1 Introducción

- Compuestos antiincrustantes
- Técnicas de extracción y determinación
- Objetivos

## 2 Experimental

- Aparatos
- Muestreo

## 3 Resultados y discusión

- Aguas
  - Optimización de una metodología mediante SPE
  - Determinación de biocidas en muestras agua de mar
- Sedimentos
  - Optimización de una metodología mediante MAE-SPE
  - Determinación de biocidas en muestras de sedimentos marinos

## 4 Conclusiones



# Índice

## 1 Introducción

- Compuestos antiincrustantes
- Técnicas de extracción y determinación
- Objetivos

## 2 Experimental

- Aparatos
- Muestreo

## 3 Resultados y discusión

- Aguas
  - Optimización de una metodología mediante SPE
  - Determinación de biocidas en muestras agua de mar
- Sedimentos
  - Optimización de una metodología mediante MAE-SPE
  - Determinación de biocidas en muestras de sedimentos marinos

## 4 Conclusiones



# La bioincrustación

## Definición

Acumulación indeseable de organismos sobre cualquier superficie sumergida.

Efectos sobre la industria naval:

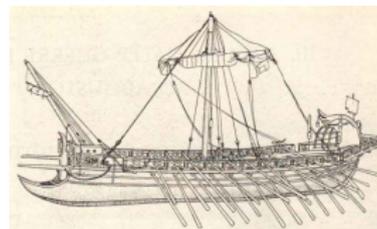
- Aumento de la rugosidad  $\Rightarrow$  Mayor consumo, menor maniobrabilidad.
- Deterioro de la superficie.
- Incremento de los costes por mantenimiento.
- Introducción de especies foráneas.



# Sistemas antiincrustantes-Biocidas

Empleo de sustancias tóxicas:

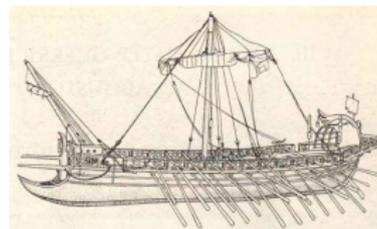
- 700 a.C.: Fenicios, Cartagineses, Romanos, Griegos (cobre, plomo, arsénico, azufre y aceite).



# Sistemas antiincrustantes-Biocidas

Empleo de sustancias tóxicas:

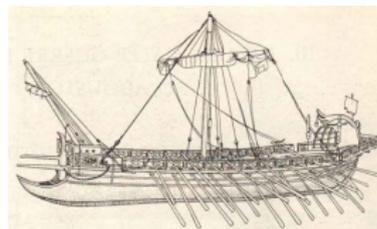
- 700 a.C.: Fenicios, Cartagineses, Romanos, Griegos (cobre, plomo, arsénico, azufre y aceite).
- Siglo XIX: primeras pinturas antiincrustantes (cobre, arsénico o mercurio mezclados con linaza o resina).



# Sistemas antiincrustantes-Biocidas

Empleo de sustancias tóxicas:

- 700 a.C.: Fenicios, Cartagineses, Romanos, Griegos (cobre, plomo, arsénico, azufre y aceite).
- Siglo XIX: primeras pinturas antiincrustantes (cobre, arsénico o mercurio mezclados con linaza o resina).
- Siglo XX: comercialización masiva (metales, compuestos orgánicos de mercurio, DDT).



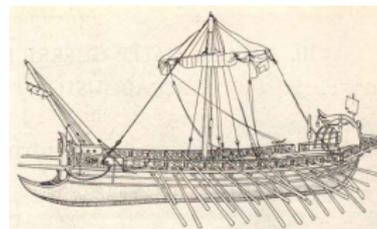
# Sistemas antiincrustantes-Biocidas

## Empleo de sustancias tóxicas:

- 700 a.C.: Fenicios, Cartagineses, Romanos, Griegos (cobre, plomo, arsénico, azufre y aceite).
- Siglo XIX: primeras pinturas antiincrustantes (cobre, arsénico o mercurio mezclados con linaza o resina).
- Siglo XX: comercialización masiva (metales, compuestos orgánicos de mercurio, DDT).

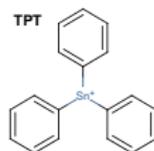
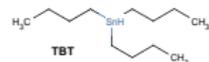
## Biocidas-Óxidos metálicos

- Óxidos de Cobre, Zinc, Hierro y Titanio.



# Biocidas-compuestos organometálicos

- Compuestos organometálicos de Plomo, Arsénico, Mercurio.
- Compuestos organoestannicos: TBT y TPT.
- Empleo en pinturas poliméricas: metacrilato de TBT.
- Efectos nocivos sobre organismos marinos.
- Directiva Europea 782/2003: Prohibición.



**Tabla:** Niveles de efectos no observados (NOEC) de TBT sobre especies no objetivo.

NOEC	Efectos
< 1ng/L	<i>Imposex</i> en gasterópodos.
1 ng/L	Disminución del crecimiento del fitoplancton y zooplancton.
< 2 ng/L	Anomalías de calcificación en ostras ( <i>C. gigas</i> ).
20 ng/L	Disminución de la reproducción en <i>C. gigas</i> .
1-10 $\mu\text{g/L}$	Disminución de la reproducción en peces.
1-100 $\mu\text{g/L}$	Comportamiento anómalo en peces.
<500 $\mu\text{g/L}$	Efectos sobre la ecdisis en crustáceos.



# Biocidas-compuestos organometálicos

- Compuestos organometálicos de Plomo, Arsénico, Mercurio.
- Compuestos organoestannicos: TBT y TPT.
- Empleo en pinturas poliméricas: metacrilato de TBT.
- Efectos nocivos sobre organismos marinos.
- Directiva Europea 782/2003: Prohibición.

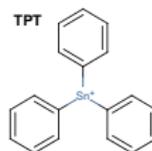
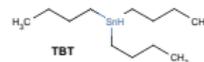


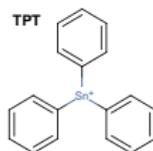
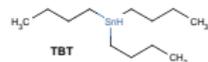
Tabla: Niveles de efectos no observados (NOEC) de TBT sobre especies no objetivo.

NOEC	Efectos
< 1ng/L	<i>Imposex</i> en gasterópodos.
1 ng/L	Disminución del crecimiento del fitoplancton y zooplancton.
< 2 ng/L	Anomalías de calcificación en ostras ( <i>C. gigas</i> ).
20 ng/L	Disminución de la reproducción en <i>C. gigas</i> .
1-10 µg/L	Disminución de la reproducción en peces.
1-100 µg/L	Comportamiento anómalo en peces.
<500 µg/L	Efectos sobre la ecdisis en crustáceos.



# Biocidas-compuestos organometálicos

- Compuestos organometálicos de Plomo, Arsénico, Mercurio.
- Compuestos organoestannicos: TBT y TPT.
- Empleo en pinturas poliméricas: metacrilato de TBT.
- Efectos nocivos sobre organismos marinos.
- **Directiva Europea 782/2003: Prohibición.**



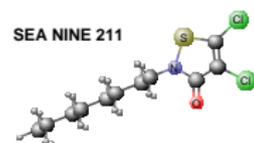
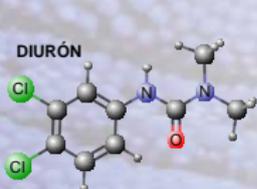
**Tabla:** Niveles de efectos no observados (NOEC) de TBT sobre especies no objetivo.

NOEC	Efectos
< 1ng/L	<i>Imposex</i> en gasterópodos.
1 ng/L	Disminución del crecimiento del fitoplancton y zooplancton.
< 2 ng/L	Anomalías de calcificación en ostras ( <i>C. gigas</i> ).
20 ng/L	Disminución de la reproducción en <i>C. gigas</i> .
1-10 µg/L	Disminución de la reproducción en peces.
1-100 µg/L	Comportamiento anómalo en peces.
<500 µg/L	Efectos sobre la ecdisis en crustáceos.



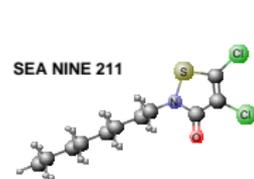
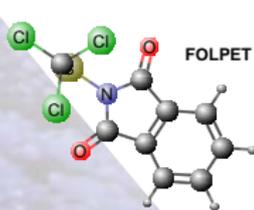
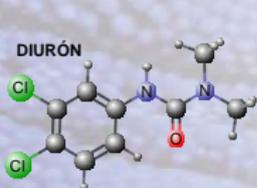
# Biocidas-*booster biocides*

- Necesidad del empleo de otro agente biocida: Cobre.
- Ineficaz contra determinadas algas, bivalvos y macrófitos.
- Empleo de otros biocidas para mejorar la eficacia ⇒

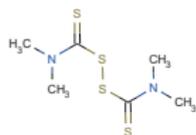


# Biocidas-*booster biocides*

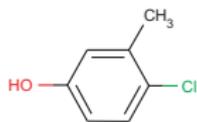
- Necesidad del empleo de otro agente biocida: Cobre.
- Ineficaz contra determinadas algas, bivalvos y macrófitos.
- Empleo de otros biocidas para mejorar la eficacia ⇒ *booster biocides*.
  - Pesticidas empleados en agricultura o industria.
  - Desconocimiento de su comportamiento e incidencia sobre el medio marino.
  - Efectos sobre especies no objetivo.
  - Inclusión dentro lista de sustancias prioritarias DMA.
  - Prohibición-restricción UK, Dinamarca, Suecia...



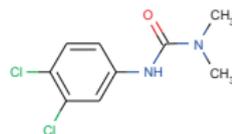
# Biocidas-booster biocidas



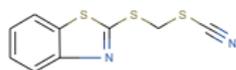
**Tiram**



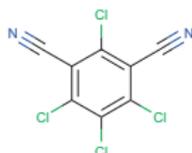
**4-Cloro-meta-cresol**



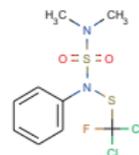
**Diurón**



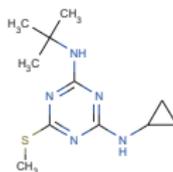
**TCMTB**



**Clorotalonil**



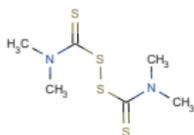
**Diclofluaniol**



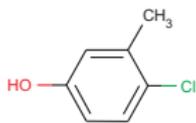
**Irgarol 1051**



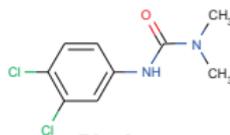
# Biocidas-booster biocidas



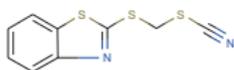
**Tiram**



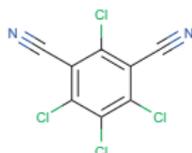
**4-Cloro-meta-cresol**



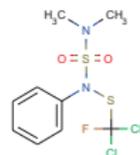
**Diurón**



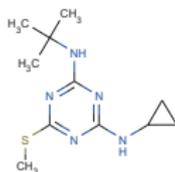
**TCMTB**



**Clorotalonil**



**Diclofluanid**



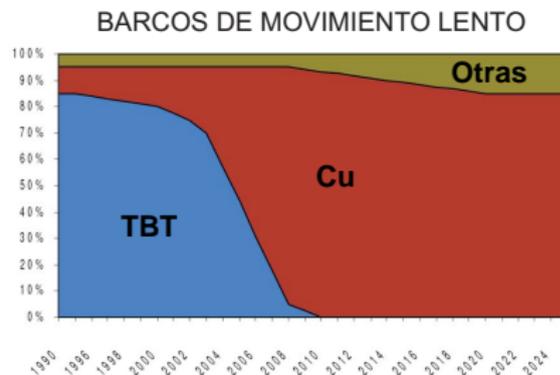
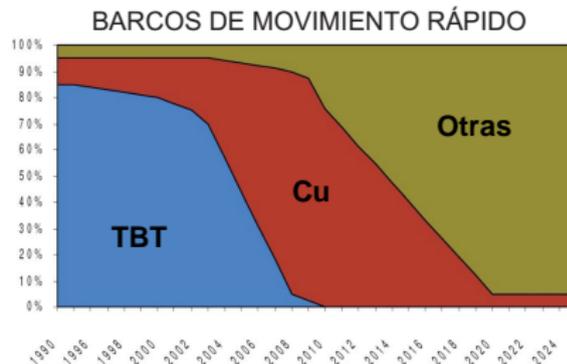
**Irgarol 1051**

- Primeros datos 1993 (Irgarol 1051).
- Detectados en puertos españoles: Irgarol 1051, Diurón y Diclofluanid junto a sus productos de degradación.



# Futuro y alternativas

- Nuevos biocidas: TPBP, Capsaicina, Econe<sup>TM</sup>, Medetomidina.
- Agentes antiincrustantes naturales: corales, esponjas, cetáceos,...
- Pinturas autopulimentables a base de siliconas y fluoropolímeros.
- Antifouling ultrasónicos.



# Extracción-agua de mar

Necesidad de una alta preconcentración:



# Extracción-agua de mar

Necesidad de una alta preconcentración:

- Extracción Líquido-Líquido (LLE):
  - Desventajas:
    - Elevado consumo de disolventes.
    - Elevado consumo de tiempo.
    - Aparatosidad-dificultad para automatizar.



# Extracción-agua de mar

Necesidad de una alta preconcentración:

- Extracción Líquido-Líquido (LLE):
  - Desventajas:
    - Elevado consumo de disolventes.
    - Elevado consumo de tiempo.
    - Aparatosidad-dificultad para automatizar.
- Extracción en fase sólida (SPE):
  - Ventajas:
    - Menor volumen de disolventes.
    - Gran variedad de fases sólidas y formatos.
    - Menor consumo de tiempo.
    - Fácil automatización.



# Extracción-agua de mar

Necesidad de una alta preconcentración:

- Extracción Líquido-Líquido (LLE):
  - Desventajas:
    - Elevado consumo de disolventes.
    - Elevado consumo de tiempo.
    - Aparatosidad-dificultad para automatizar.
  - Extracción en fase sólida (SPE):
    - Ventajas:
      - Menor volumen de disolventes.
      - Gran variedad de fases sólidas y formatos.
      - Menor consumo de tiempo.
      - Fácil automatización.



# Extracción-agua de mar

Necesidad de una alta preconcentración:

- Extracción Líquido-Líquido (LLE):
  - Desventajas:
    - Elevado consumo de disolventes.
    - Elevado consumo de tiempo.
    - Aparatosidad-dificultad para automatizar.
  - Extracción en fase sólida (SPE):
    - Ventajas:
      - Menor volumen de disolventes.
      - Gran variedad de fases sólidas y formatos.
      - Menor consumo de tiempo.
      - Fácil automatización.
    - Variables a optimizar.
      - Fase sólida.
      - Volumen de muestra.
      - Lavado.
      - Elución.



# Extracción-agua de mar

Necesidad de una alta preconcentración:

- Extracción Líquido-Líquido (LLE):
  - Desventajas:
    - Elevado consumo de disolventes.
    - Elevado consumo de tiempo.
    - Aparatosidad-dificultad para automatizar.
  - Extracción en fase sólida (SPE):
    - Ventajas:
      - Menor volumen de disolventes.
      - Gran variedad de fases sólidas y formatos.
      - Menor consumo de tiempo.
      - Fácil automatización.
    - Variables a optimizar.
      - Fase sólida.
      - Volumen de muestra.
      - Lavado.
      - Elución.
  - Otras alternativas: SPME, SME, inmunosorbentes...



# Extracción-sedimentos

- Técnicas convencionales: Soxhlet y ultrasonidos.
- Desventajas:
  - Elevado consumo de disolventes y/o tiempo.
  - Técnicas tediosas.



# Extracción-sedimentos

- Técnicas convencionales: Soxhlet y ultrasonidos.
  - Desventajas:
    - Elevado consumo de disolventes y/o tiempo.
    - Técnicas tediosas.
- Extracción asistida por microondas (MAE):
  - Ventajas:
    - Reducción del tiempo de análisis.
    - Empleo de menores volúmenes de disolventes.
    - Muestras simultáneas.



# Extracción-sedimentos

- Técnicas convencionales: Soxhlet y ultrasonidos.
  - Desventajas:
    - Elevado consumo de disolventes y/o tiempo.
    - Técnicas tediosas.
- Extracción asistida por microondas (MAE):
  - Ventajas:
    - Reducción del tiempo de análisis.
    - Empleo de menores volúmenes de disolventes.
    - Muestras simultáneas.



# Extracción-sedimentos

- Técnicas convencionales: Soxhlet y ultrasonidos.
  - Desventajas:
    - Elevado consumo de disolventes y/o tiempo.
    - Técnicas tediosas.
- Extracción asistida por microondas (MAE):
  - Ventajas:
    - Reducción del tiempo de análisis.
    - Empleo de menores volúmenes de disolventes.
    - Muestras simultáneas.
  - Variables a optimizar:
    - Disolvente y volumen a emplear.
    - Temperatura-Potencia.
    - Tiempo.
    - Limpieza del extracto.



# Extracción-sedimentos

- Técnicas convencionales: Soxhlet y ultrasonidos.
  - Desventajas:
    - Elevado consumo de disolventes y/o tiempo.
    - Técnicas tediosas.
- Extracción asistida por microondas (MAE):
  - Ventajas:
    - Reducción del tiempo de análisis.
    - Empleo de menores volúmenes de disolventes.
    - Muestras simultáneas.
  - Variables a optimizar:
    - Disolvente y volumen a emplear.
    - Temperatura-Potencia.
    - Tiempo.
    - Limpieza del extracto.
- Otras alternativas: SFE.



# Objetivos

- 1 **Metodología analítica para la determinación en agua de mar por SPE-HPLC-DAD y SPE-LC-MS/MS.**



# Objetivos

- 1 Metodología analítica para la determinación en agua de mar por SPE-HPLC-DAD y SPE-LC-MS/MS.
- 2 Metodología analítica para la determinación en sedimentos portuarios mediante MAE-SPE-LC-MS/MS.



# Objetivos

- 1 Metodología analítica para la determinación en agua de mar por SPE-HPLC-DAD y SPE-LC-MS/MS.
- 2 Metodología analítica para la determinación en sedimentos portuarios mediante MAE-SPE-LC-MS/MS.
- 3 Muestreo prolongado en varios puertos de la isla de Gran Canaria.



# Objetivos

- 1 Metodología analítica para la determinación en agua de mar por SPE-HPLC-DAD y SPE-LC-MS/MS.
- 2 Metodología analítica para la determinación en sedimentos portuarios mediante MAE-SPE-LC-MS/MS.
- 3 Muestreo prolongado en varios puertos de la isla de Gran Canaria.
- 4 Análisis de las muestras recolectadas.



# Objetivos

- 1 Metodología analítica para la determinación en agua de mar por SPE-HPLC-DAD y SPE-LC-MS/MS.
- 2 Metodología analítica para la determinación en sedimentos portuarios mediante MAE-SPE-LC-MS/MS.
- 3 Muestreo prolongado en varios puertos de la isla de Gran Canaria.
- 4 Análisis de las muestras recolectadas.
- 5 Análisis estadístico e interpretación de los datos.



# Objetivos

- 1 Metodología analítica para la determinación en agua de mar por SPE-HPLC-DAD y SPE-LC-MS/MS.
- 2 Metodología analítica para la determinación en sedimentos portuarios mediante MAE-SPE-LC-MS/MS.
- 3 Muestreo prolongado en varios puertos de la isla de Gran Canaria.
- 4 Análisis de las muestras recolectadas.
- 5 Análisis estadístico e interpretación de los datos.
- 6 Evaluación del riesgo ecológico en las aguas examinadas.



# Objetivos

- 1 Metodología analítica para la determinación en agua de mar por SPE-HPLC-DAD y SPE-LC-MS/MS.
- 2 Metodología analítica para la determinación en sedimentos portuarios mediante MAE-SPE-LC-MS/MS.
- 3 Muestreo prolongado en varios puertos de la isla de Gran Canaria.
- 4 Análisis de las muestras recolectadas.
- 5 Análisis estadístico e interpretación de los datos.
- 6 Evaluación del riesgo ecológico en las aguas examinadas.

**Referenciar por primera vez la presencia de estos compuestos en puertos de la isla de Gran Canaria.**



# Índice

## 1 Introducción

- Compuestos antiincrustantes
- Técnicas de extracción y determinación
- Objetivos

## 2 Experimental

- Aparatos
- Muestreo

## 3 Resultados y discusión

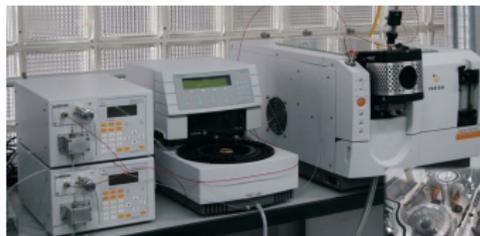
- Aguas
  - Optimización de una metodología mediante SPE
  - Determinación de biocidas en muestras agua de mar
- Sedimentos
  - Optimización de una metodología mediante MAE-SPE
  - Determinación de biocidas en muestras de sedimentos marinos

## 4 Conclusiones



# Aparatos utilizados

- Microondas.
- Sistema de extracción en fase sólida.
- Cromatógrafo líquido con detector de diodos.
- Cromatógrafo líquido con detector de masas de triple cuadrupolo.



# Muestreo

## Muestras de agua de mar

- 26 puntos de muestreo.
- Mayo 2007-mayo 2009.
- 337 muestras (155-DAD y 182-MS/MS).
- Filtradas, 4°C, botellas color ámbar, análisis por duplicado.



# Muestreo

## Muestras de agua de mar

- 26 puntos de muestreo.
- Mayo 2007-mayo 2009.
- 337 muestras (155-DAD y 182-MS/MS).
- Filtradas, 4°C, botellas color ámbar, análisis por duplicado.

## Muestras de sedimentos

- 7 puntos de muestreo.
- Enero 2008-mayo 2009.
- 61 muestras.
- Liofilizadas, tamizadas, -18°C, análisis por duplicado.



# Muestreo

## Muestras de agua de mar

- 26 puntos de muestreo.
- Mayo 2007-mayo 2009.
- 337 muestras (155-DAD y 182-MS/MS).
- Filtradas, 4°C, botellas color ámbar, análisis por duplicado.

## Muestras de sedimentos

- 7 puntos de muestreo.
- Enero 2008-mayo 2009.
- 61 muestras.
- Liofilizadas, tamizadas, -18°C, análisis por duplicado.

## Puertos en Estudio

- Puerto de La Luz, Real Club Náutico de Gran Canaria, Muelle Deportivo (A).



# Muestreo

## Muestras de agua de mar

- 26 puntos de muestreo.
- Mayo 2007-mayo 2009.
- 337 muestras (155-DAD y 182-MS/MS).
- Filtradas, 4°C, botellas color ámbar, análisis por duplicado.

## Muestras de sedimentos

- 7 puntos de muestreo.
- Enero 2008-mayo 2009.
- 61 muestras.
- Liofilizadas, tamizadas, -18°C, análisis por duplicado.

## Puertos en Estudio

- Puerto de La Luz, Real Club Náutico de Gran Canaria, Muelle Deportivo (A).
- Puerto de Mogán (B).



# Muestreo

## Muestras de agua de mar

- 26 puntos de muestreo.
- Mayo 2007-mayo 2009.
- 337 muestras (155-DAD y 182-MS/MS).
- Filtradas, 4°C, botellas color ámbar, análisis por duplicado.

## Muestras de sedimentos

- 7 puntos de muestreo.
- Enero 2008-mayo 2009.
- 61 muestras.
- Liofilizadas, tamizadas, -18°C, análisis por duplicado.

## Puertos en Estudio

- Puerto de La Luz, Real Club Náutico de Gran Canaria, Muelle Deportivo (A).
- Puerto de Mogán (B). Puerto Rico (C).



# Muestreo

## Muestras de agua de mar

- 26 puntos de muestreo.
- Mayo 2007-mayo 2009.
- 337 muestras (155-DAD y 182-MS/MS).
- Filtradas, 4°C, botellas color ámbar, análisis por duplicado.

## Muestras de sedimentos

- 7 puntos de muestreo.
- Enero 2008-mayo 2009.
- 61 muestras.
- Liofilizadas, tamizadas, -18°C, análisis por duplicado.

## Puertos en Estudio

- Puerto de La Luz, Real Club Náutico de Gran Canaria, Muelle Deportivo (A).
- Puerto de Mogán (B). Puerto Rico (C). Arguineguín (D).

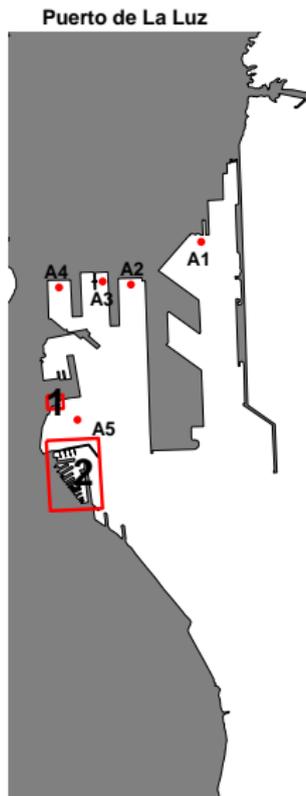


# Puertos en estudio

## Puerto de la Luz y de Las Palmas de Gran Canaria



- Puerto comercial, pesquero y de pasajeros.
- Localización estratégica.
- 1.5 millones Tn/año de combustibles.
- 400 000 Tn/año pescado congelado.
- 60 000 TEUs/año.
- 1.5 millones pasajeros/año.
- 5 puntos para muestras de agua.



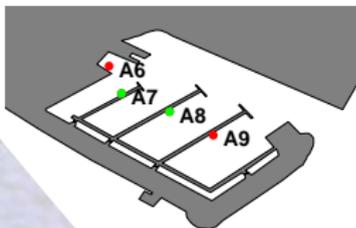
# Puertos en estudio

## Puerto Deportivo del Real Club Náutico de Gran Canaria

- Puerto deportivo.
- Diversas actividades náuticas.
- Comienzo de la actividad en mayo de 2007.
- 135 atraques.
- 98 % de ocupación en la actualidad.
- 4 para muestras de agua y 2 para sedimentos.



Real Club Náutico de Gran Canaria



# Puertos en estudio

## Muelle Deportivo

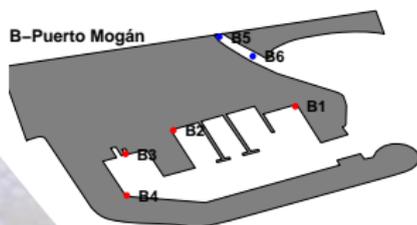
- Dársena deportiva del Puerto de La Luz.
- 1135 atraques.
- Parada de embarcaciones que se preparan para la travesía transatlántica.
- 5 para muestras de agua y 1 para sedimentos.



# Puertos en estudio

## Puerto de Mogán

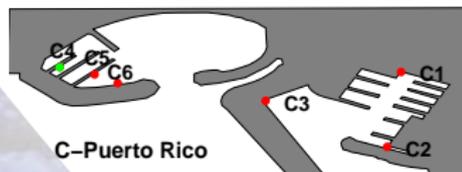
- Puerto deportivo (Este) y pesquero (Oeste).
- 216 atraques.
- 92 % de ocupación.
- 4 para muestras de agua y 2 para sedimentos (en sus proximidades).



# Puertos en estudio

## Puerto Deportivo de Puerto Rico

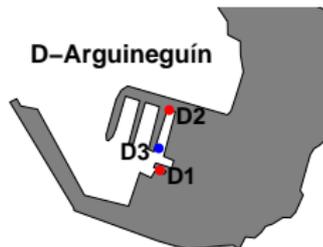
- Dos dársenas deportivas bien diferenciadas (Puerto Base-Este y Puerto Escala-Oeste).
- 531 atraques (319 Puerto Base, 212 Puerto Escala).
- 99 % de ocupación.
- 6 para muestras de agua (3 Puerto Base y 3 Puerto Escala) y 1 para sedimentos (Puerto Escala).



# Puertos en estudio

## Puerto de Arguineguín

- Puerto pesquero.
- 30 000 m<sup>2</sup> área de servicios.
- 2 para muestras de agua y 1 para sedimentos.



# Índice

## 1 Introducción

- Compuestos antiincrustantes
- Técnicas de extracción y determinación
- Objetivos

## 2 Experimental

- Aparatos
- Muestreo

## 3 Resultados y discusión

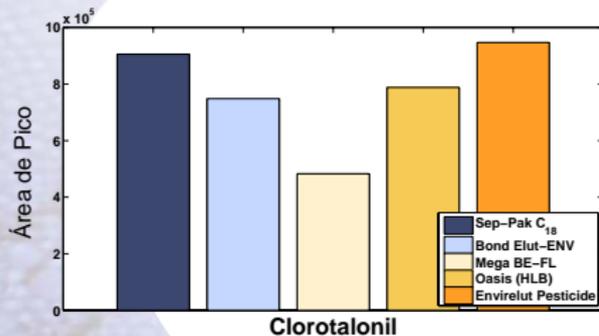
- Aguas
  - Optimización de una metodología mediante SPE
  - Determinación de biocidas en muestras agua de mar
- Sedimentos
  - Optimización de una metodología mediante MAE-SPE
  - Determinación de biocidas en muestras de sedimentos marinos

## 4 Conclusiones

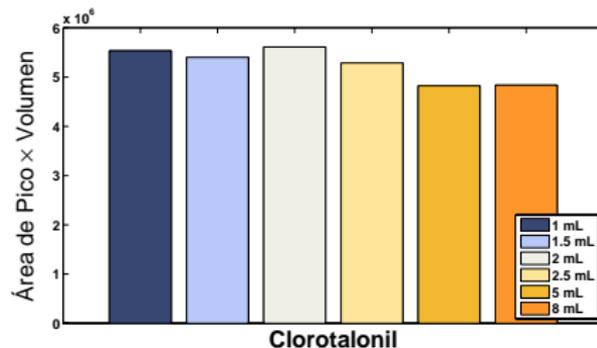


# Parámetros SPE

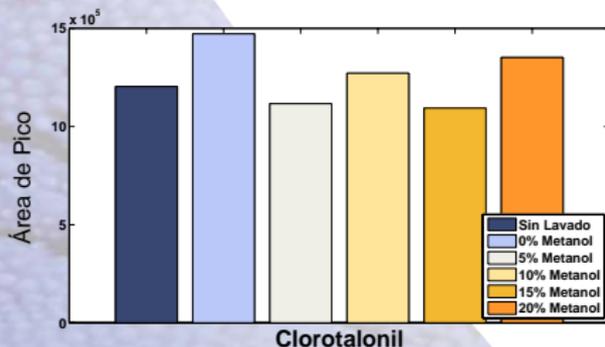
## Fase sólida



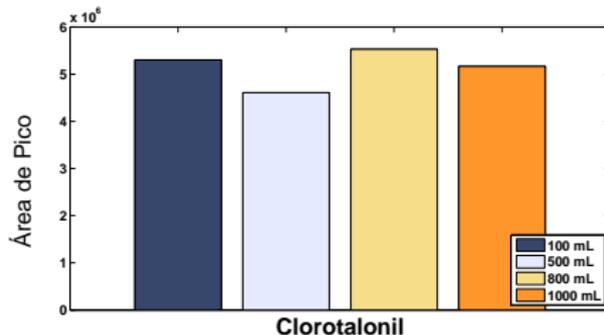
## Volumen de elución



## Lavado

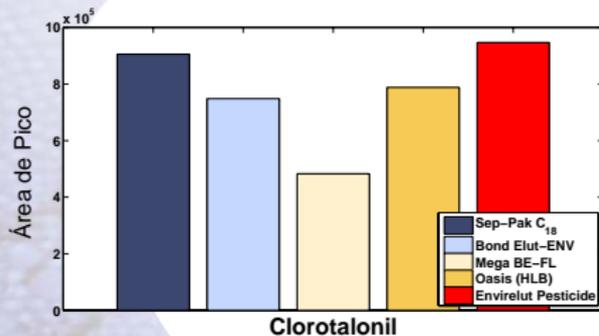


## Volumen de muestra

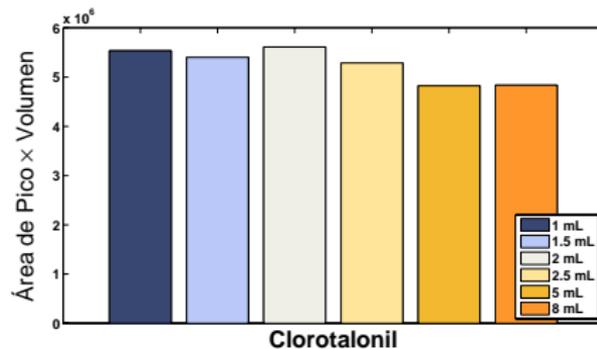


# Parámetros SPE

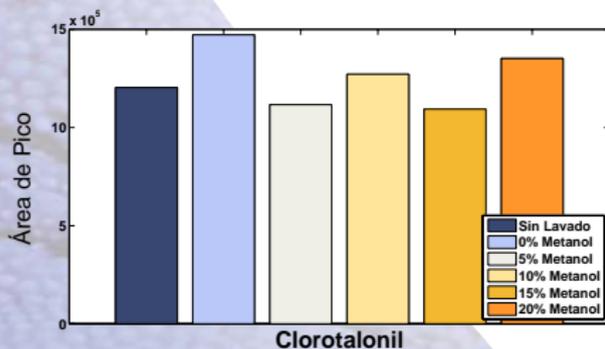
## Fase sólida



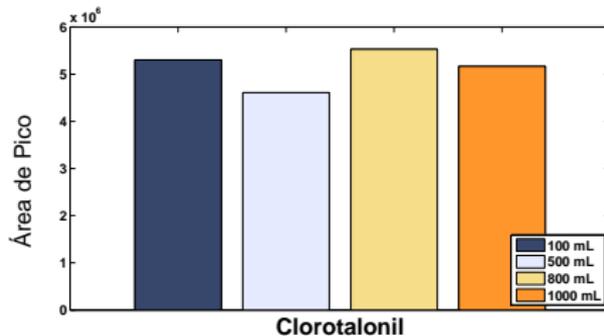
## Volumen de elución



## Lavado

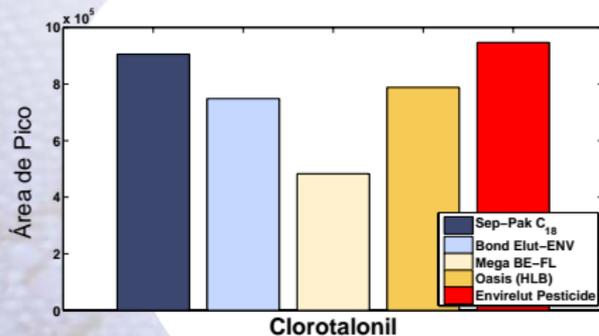


## Volumen de muestra

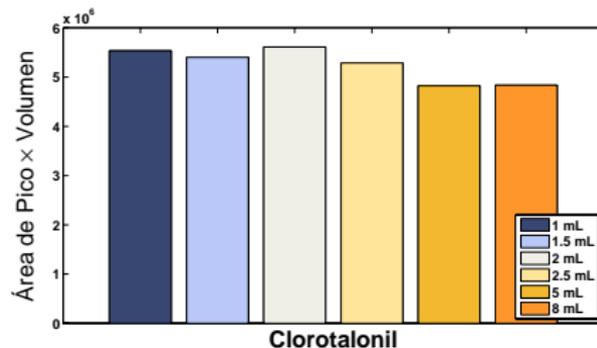


# Parámetros SPE

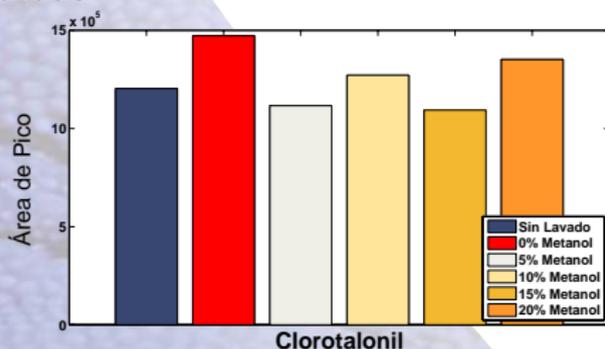
## Fase sólida



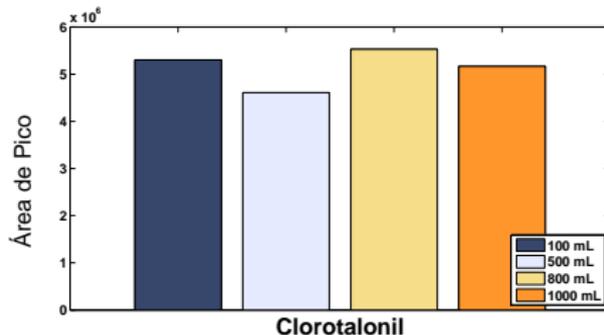
## Volumen de elución



## Lavado

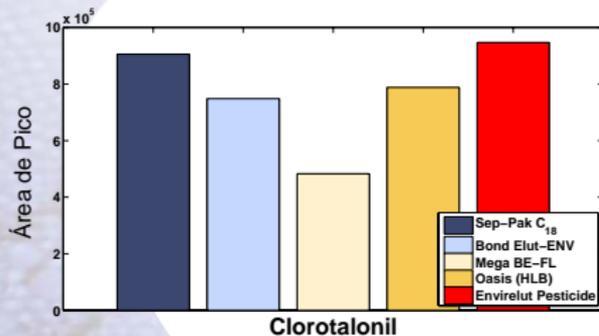


## Volumen de muestra

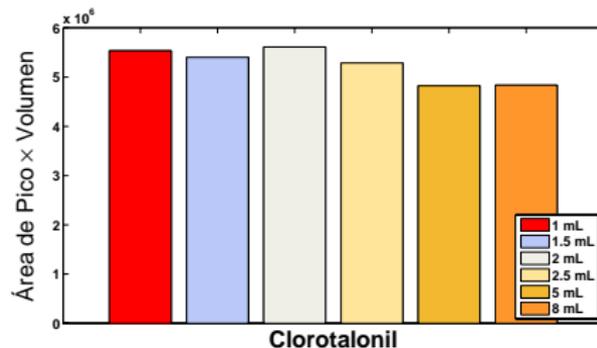


# Parámetros SPE

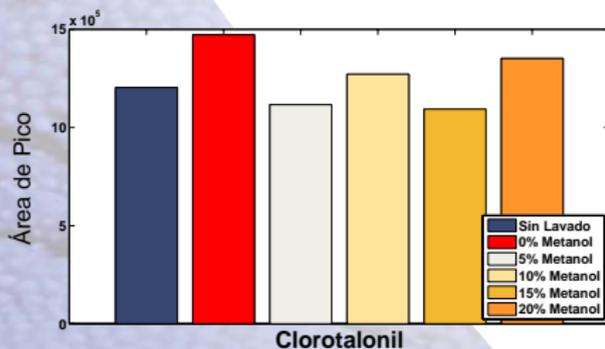
## Fase sólida



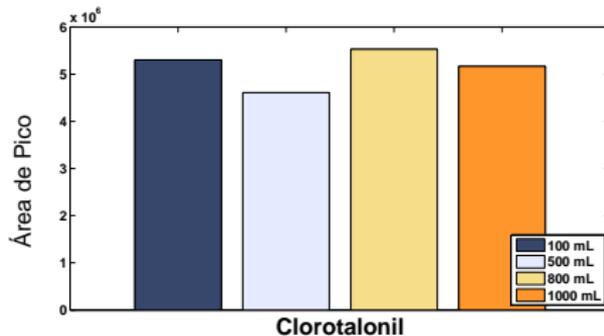
## Volumen de elución



## Lavado

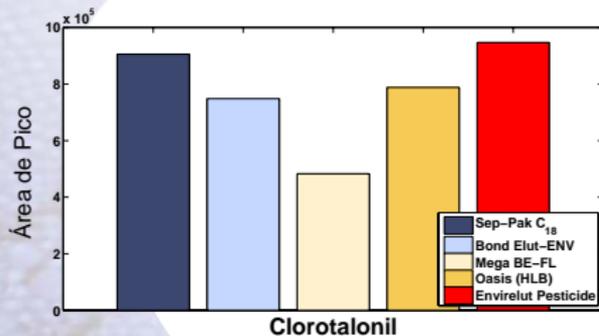


## Volumen de muestra

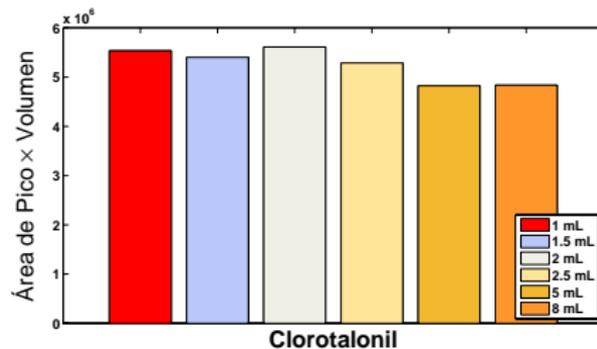


# Parámetros SPE

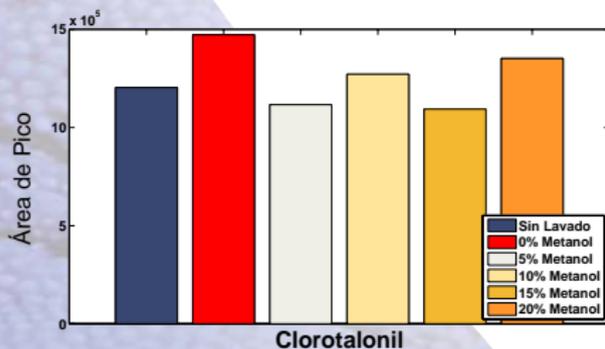
## Fase sólida



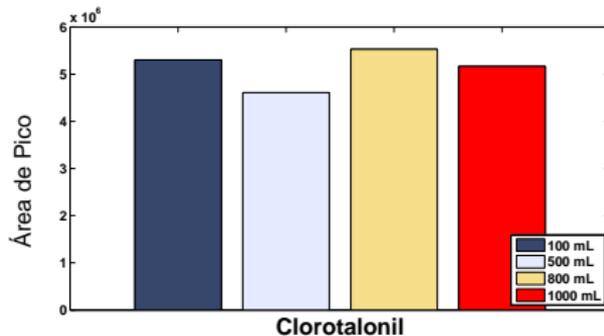
## Volumen de elución



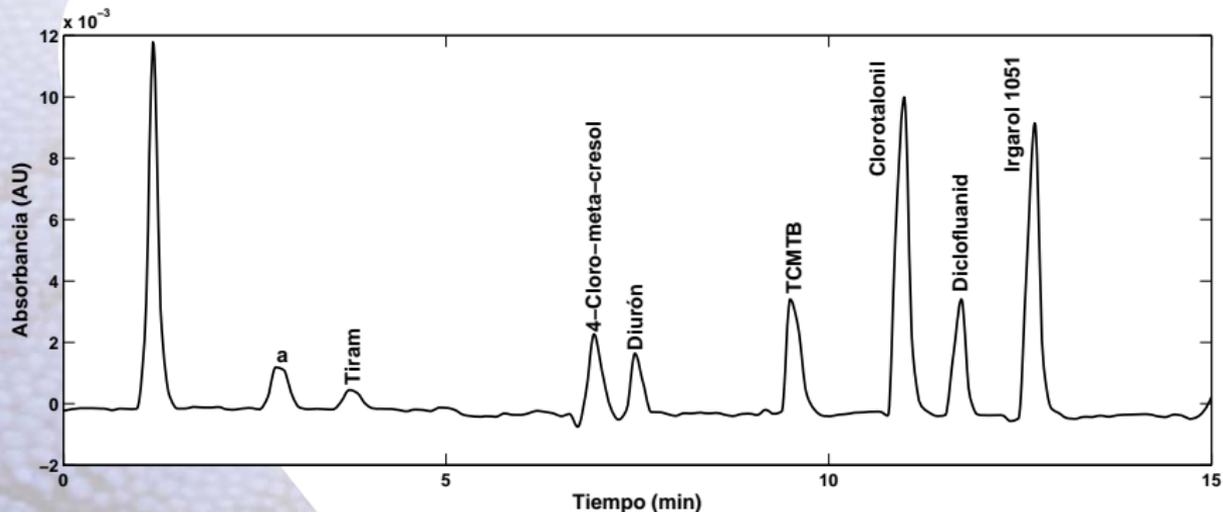
## Lavado



## Volumen de muestra



# Parámetros analíticos SPE-HPLC-DAD



**Figura:** Cromatograma de una muestra real enriquecida con la mezcla de los biocidas en estudio.



# Parámetros analíticos SPE-HPLC-DAD

Tabla: Parámetros analíticos obtenidos mediante SPE-HPLC.

---

Compuesto
-----------

---

*Tiram*

*4-Cloro-meta-cresol*

*Diurón*

*TCMTB*

*Clorotalonil*

*Diclofluanid*

*Irgarol 1051*

---

<sup>a</sup>n=6. (500 ng/L y 2000 ng/L para Diclofluanid)

<sup>b</sup>Desviación estándar relativa.

<sup>c</sup>Límite de detección.



# Parámetros analíticos SPE-HPLC-DAD

Tabla: Parámetros analíticos obtenidos mediante SPE-HPLC.

Compuesto	Recuperación <sup>a</sup> (%)	R.S.D. <sup>a,b</sup> (%)
<i>Tiram</i>	96.3	6.5
<i>4-Cloro-meta-cresol</i>	103.0	5.4
<i>Diurón</i>	100.5	3.5
<i>TCMTB</i>	84.6	4.7
<i>Clorotalonil</i>	92.2	5.9
<i>Diclofluanid</i>	67.7	10.8
<i>Irgarol 1051</i>	92.9	3.8

<sup>a</sup>n=6. (500 ng/L y 2000 ng/L para Diclofluanid)

<sup>b</sup>Desviación estándar relativa.

<sup>c</sup>Límite de detección.



# Parámetros analíticos SPE-HPLC-DAD

Tabla: Parámetros analíticos obtenidos mediante SPE-HPLC.

Compuesto	Recuperación <sup>a</sup> (%)	R.S.D. <sup>a,b</sup> (%)	L.O.D. <sup>c</sup> (ng/L)
<i>Tiram</i>	96.3	6.5	21.9
<i>4-Cloro-meta-cresol</i>	103.0	5.4	74.8
<i>Diurón</i>	100.5	3.5	37.5
<i>TCMTB</i>	84.6	4.7	7.4
<i>Clorotalonil</i>	92.2	5.9	9.5
<i>Diclofluanid</i>	67.7	10.8	415.4
<i>Irgarol 1051</i>	92.9	3.8	31.3

<sup>a</sup>n=6. (500 ng/L y 2000 ng/L para Diclofluanid)

<sup>b</sup>Desviación estándar relativa.

<sup>c</sup>Límite de detección.



# Optimización parámetros MS/MS

- *Electrospray* e Ionización en Positivo.
- *Multiple Reaction Monitoring*.
- No se pudo determinar Tiram, Clorotalonil ni 4-Cloro-meta-cresol.
- Columna  $C_{18}$ ,  $50\text{mm} \times 2\text{mm}$  y  $2.4\mu\text{m}$ .

Tabla: Iones MS/MS.

Compuesto	M	Precursor	Cuant.	Conf.
-----------	---	-----------	--------	-------

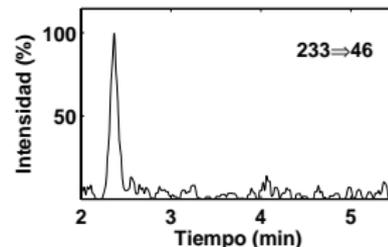
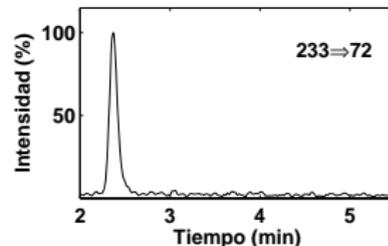
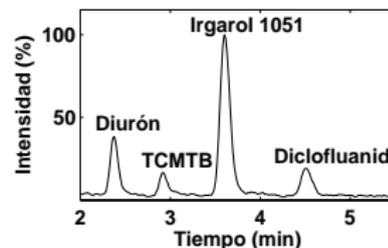


Figura: Muestra enriquecida, 10 ng/L.

# Optimización parámetros MS/MS

- *Electrospray* e Ionización en Positivo.
- *Multiple Reaction Monitoring*.
- No se pudo determinar Tiram, Clorotalonil ni 4-Cloro-meta-cresol.
- Columna C<sub>18</sub>, 50mm×2mm y 2.4μm.

Tabla: Iones MS/MS.

Compuesto	M	Precursor	Cuant.	Conf.
<i>Diurón</i>	232	233	72	46

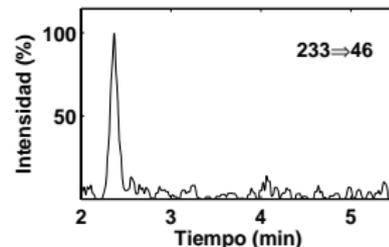
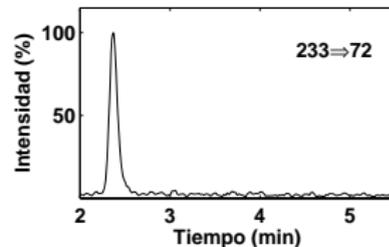
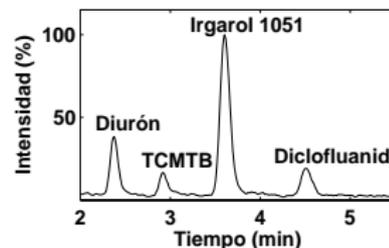


Figura: Muestra enriquecida, 10 ng/L.



# Optimización parámetros MS/MS

- *Electrospray* e Ionización en Positivo.
- *Multiple Reaction Monitoring*.
- No se pudo determinar Tiram, Clorotalonil ni 4-Cloro-meta-cresol.
- Columna C<sub>18</sub>, 50mm×2mm y 2.4μm.

Tabla: Iones MS/MS.

Compuesto	M	Precursor	Cuant.	Conf.
<i>Diurón</i>	232	233	72	46
<i>TCMTB</i>	238	239	180	136

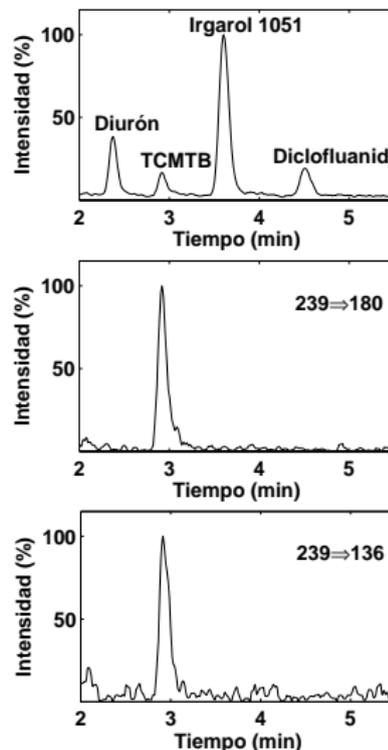


Figura: Muestra enriquecida, 10 ng/L.

# Optimización parámetros MS/MS

- *Electrospray* e Ionización en Positivo.
- *Multiple Reaction Monitoring*.
- No se pudo determinar Tiram, Clorotalonil ni 4-Cloro-meta-cresol.
- Columna C<sub>18</sub>, 50mm×2mm y 2.4μm.

Tabla: Iones MS/MS.

Compuesto	M	Precursor	Cuant.	Conf.
<i>Diurón</i>	232	233	72	46
<i>TCMTB</i>	238	239	180	136
<i>Irgarol 1051</i>	253	254	198	91

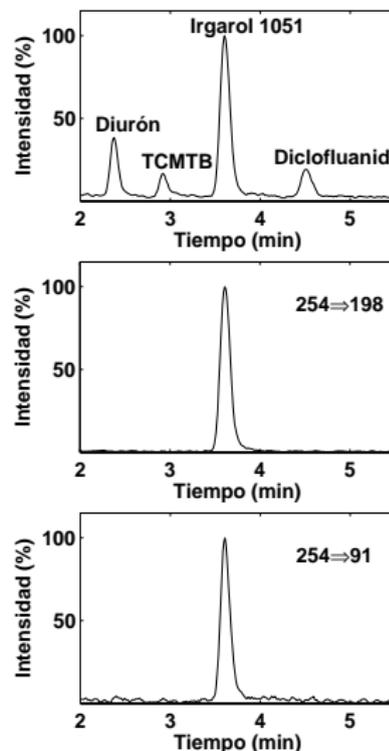


Figura: Muestra enriquecida, 10 ng/L.

# Optimización parámetros MS/MS

- *Electrospray* e Ionización en Positivo.
- *Multiple Reaction Monitoring*.
- No se pudo determinar Tiram, Clorotalonil ni 4-Cloro-meta-cresol.
- Columna  $C_{18}$ ,  $50\text{mm} \times 2\text{mm}$  y  $2.4\mu\text{m}$ .

Tabla: Iones MS/MS.

Compuesto	M	Precursor	Cuant.	Conf.
<i>Diurón</i>	232	233	72	46
<i>TCMTB</i>	238	239	180	136
<i>Irgarol 1051</i>	253	254	198	91
<i>Diclofluanid</i>	332	333	123	224
		224		

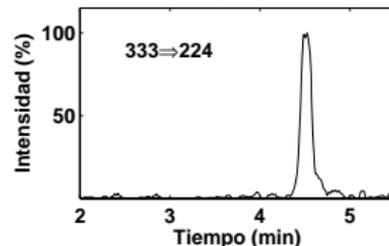
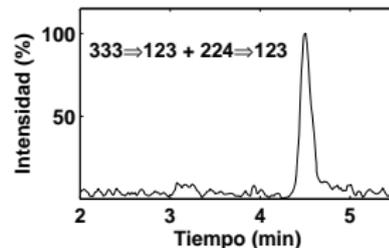
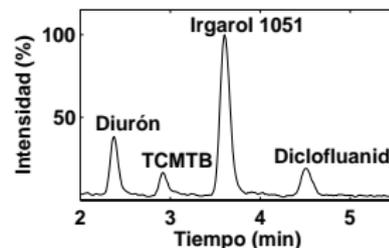


Figura: Muestra enriquecida, 10 ng/L.

# Parámetros analíticos SPE-LC-MS/MS

Tabla: Parámetros analíticos obtenidos mediante SPE-LC-MS/MS.

---

## Compuesto

---

*Diurón*

*TCMTB*

*Irgarol 1051*

*Diclofluanid*

---

<sup>a</sup>Recuperación (n=6, 5ng/L).

<sup>b</sup>Desviación estándar relativa (n=6, 5ng/L).

<sup>c</sup>Límite de detección. (S/N=3).

<sup>d</sup>Límite de cuantificación. (S/N=10).

- Mejora sustancial de la cuantificación y confirmación.
- Adecuado para la determinación en muestras.



# Parámetros analíticos SPE-LC-MS/MS

**Tabla:** Parámetros analíticos obtenidos mediante SPE-LC-MS/MS.

Compuesto	Recup. <sup>a</sup> (%)	R.S.D. <sup>b</sup> (%)
<i>Diurón</i>	83.7	4.2
<i>TCMTB</i>	79.3	6.8
<i>Irgarol 1051</i>	78.9	2.5
<i>Diclofluanid</i>	81.8	6.0

<sup>a</sup>Recuperación (n=6, 5ng/L).

<sup>b</sup>Desviación estándar relativa (n=6, 5ng/L).

<sup>c</sup>Límite de detección. (S/N=3).

<sup>d</sup>Límite de cuantificación. (S/N=10).

- Mejora sustancial de la cuantificación y confirmación.
- Adecuado para la determinación en muestras.



# Parámetros analíticos SPE-LC-MS/MS

**Tabla:** Parámetros analíticos obtenidos mediante SPE-LC-MS/MS.

Compuesto	Recup. <sup>a</sup> (%)	R.S.D. <sup>b</sup> (%)	L.O.D. <sup>c</sup> (ng/L)	L.O.Q. <sup>d</sup> (ng/L)
<i>Diurón</i>	83.7	4.2	0.1	0.4
<i>TCMTB</i>	79.3	6.8	0.2	0.5
<i>Irgarol 1051</i>	78.9	2.5	0.1	0.3
<i>Diclofluanid</i>	81.8	6.0	0.1	0.3

<sup>a</sup>Recuperación (n=6, 5ng/L).

<sup>b</sup>Desviación estándar relativa (n=6, 5ng/L).

<sup>c</sup>Límite de detección. (S/N=3).

<sup>d</sup>Límite de cuantificación. (S/N=10).

- Mejora sustancial de la cuantificación y confirmación.
- Adecuado para la determinación en muestras.



# Muestras, mayo 2007-marzo 2008 (DAD)

## Diurón

- Presente en el 51.6 %.
- 37.7 ng/L-635.2 ng/L.
- Club Náutico a partir de septiembre de 2007, 87.5 %.

**Tabla:** Parámetros estadísticos descriptivos de los niveles de Diurón por puerto.

Puerto	Presencia (%)	Min.-Max. (ng/L)	Media (ng/L)
<i>Puerto de La Luz</i>	36.7	40.3-191.4	67.9
<i>Club Náutico</i>	58.3	37.7-384.6	109.5
<i>Muelle Deportivo</i>	70.0	42.2-635.2	107.4
<i>Mogán</i>	50.0	39.3-96.7	53.4
<i>Puerto Rico</i>	41.7	38.3-207.3	63.5
<i>Arguineguín</i>	66.7	50.5-100.1	65.6



# Muestras, mayo 2007-marzo 2008 (DAD)

## Diurón

- Presente en el 51.6 %.
- 37.7 ng/L-635.2 ng/L.
- Club Náutico a partir de septiembre de 2007, 87.5 %.

**Tabla:** Parámetros estadísticos descriptivos de los niveles de Diurón por puerto.

Puerto	Presencia (%)	Min.-Max. (ng/L)	Media (ng/L)
<i>Puerto de La Luz</i>	36.7	40.3-191.4	67.9
<i>Club Náutico</i>	58.3	37.7-384.6	109.5
<i>Muelle Deportivo</i>	70.0	42.2-635.2	107.4
<i>Mogán</i>	50.0	39.3-96.7	53.4
<i>Puerto Rico</i>	41.7	38.3-207.3	63.5
<i>Arguineguín</i>	66.7	50.5-100.1	65.6



# Muestras, mayo 2007-marzo 2008 (DAD)

## Diurón

- Presente en el 51.6 %.
- 37.7 ng/L-635.2 ng/L.
- Club Náutico a partir de septiembre de 2007, 87.5 %.

**Tabla:** Parámetros estadísticos descriptivos de los niveles de Diurón por puerto.

Puerto	Presencia (%)	Min.-Max. (ng/L)	Media (ng/L)
<i>Puerto de La Luz</i>	36.7	40.3-191.4	67.9
<i>Club Náutico</i>	58.3	37.7-384.6	109.5
<i>Muelle Deportivo</i>	70.0	42.2-635.2	107.4
<i>Mogán</i>	50.0	39.3-96.7	53.4
<i>Puerto Rico</i>	41.7	38.3-207.3	63.5
<i>Arguineguín</i>	66.7	50.5-100.1	65.6

## Irgarol 1051

- 5.8 %, determinación esporádica.
- 31.7ng/L-56.8 ng/L.



## Muestras, mayo 2008-mayo 2009 (LC-MS/MS)

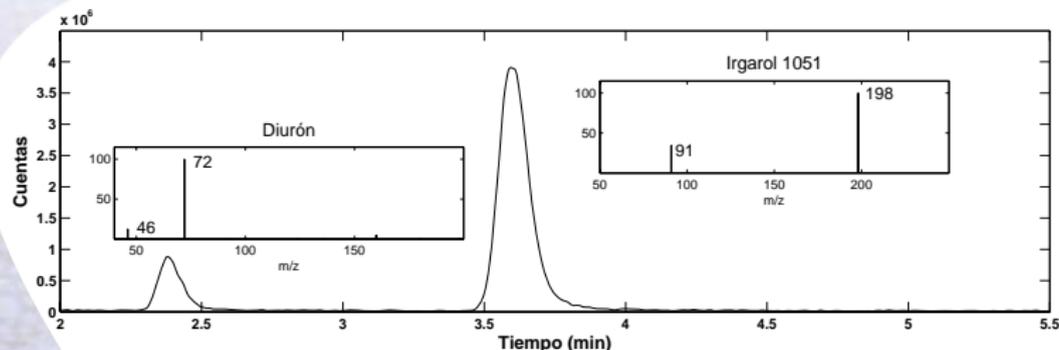


Figura: Cromatograma TIC, muestra A7 (Club Náutico, Noviembre 2008).

- 100 % Irgarol 1051 y 99.4 % Diurón.
- Diurón 2.3 ng/L y 203.6 ng/L, 34.5 ng/L de media y 70.7 ng/L para 90 %.
- Irgarol 1051 2.4 ng/L y 146 ng/L, 24.8 ng/L de media y 49.9 ng/L para 90 %.
- No se detectó la presencia de TCMTB ni de Diclofluanid.
- Análisis estadístico: ANOVA y ANOVA no paramétrico.



## Muestras, mayo 2008-mayo 2009 (LC-MS/MS)

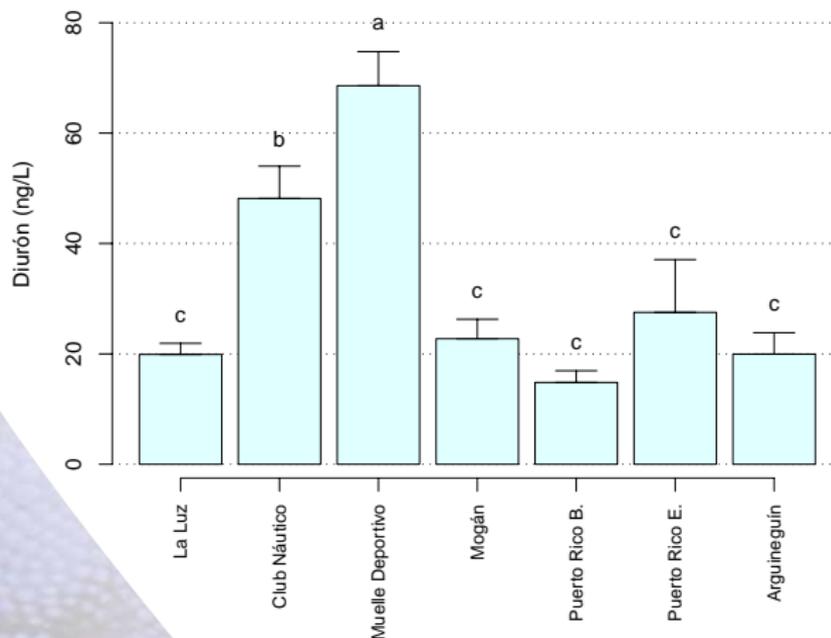
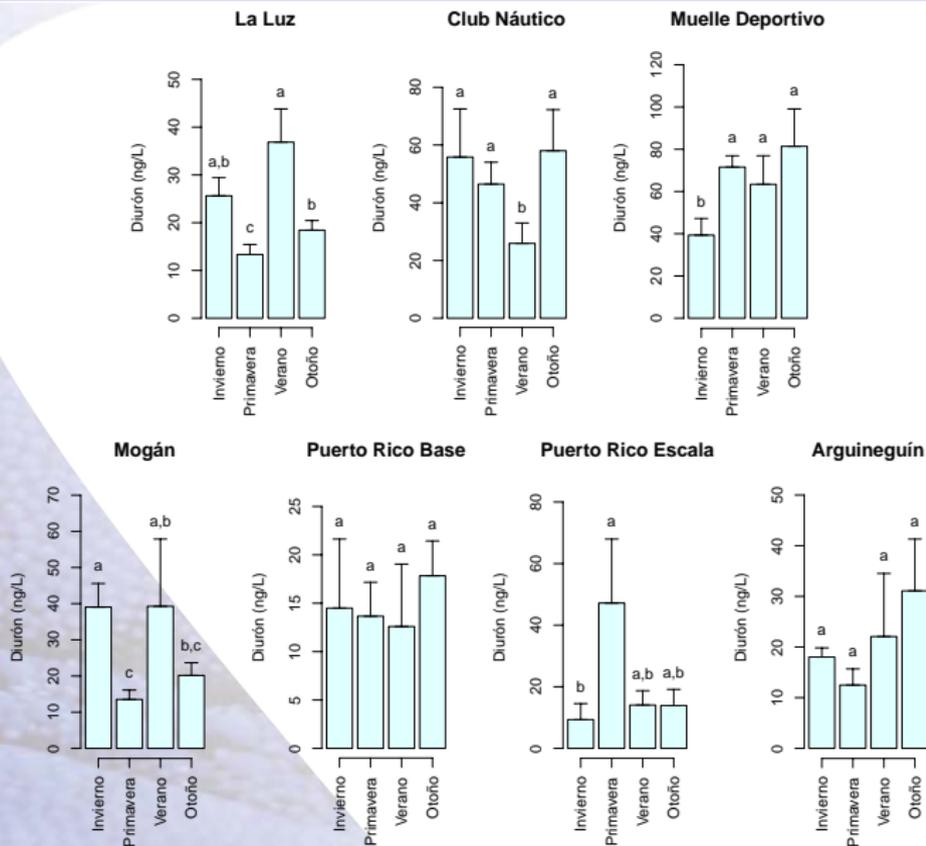


Figura: Diurón, comparación entre puertos.

- Similitud con resultados previos.
- Muelle Deportivo y Club Náutico (48.2 ng/L).



## Muestras, mayo 2008-mayo 2009 (LC-MS/MS)



**Figura:** Diurón, comportamiento estacional.



## Muestras, mayo 2008-mayo 2009 (LC-MS/MS)

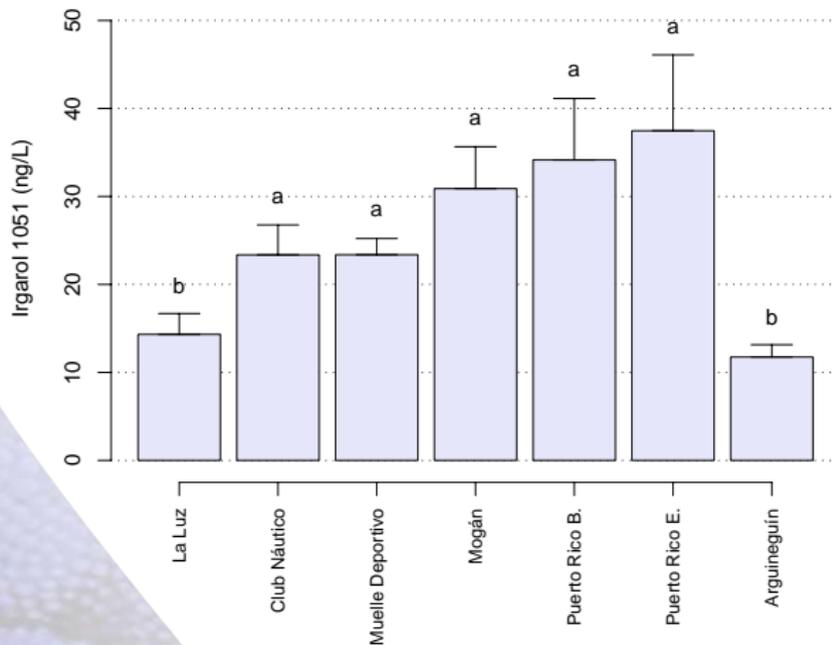
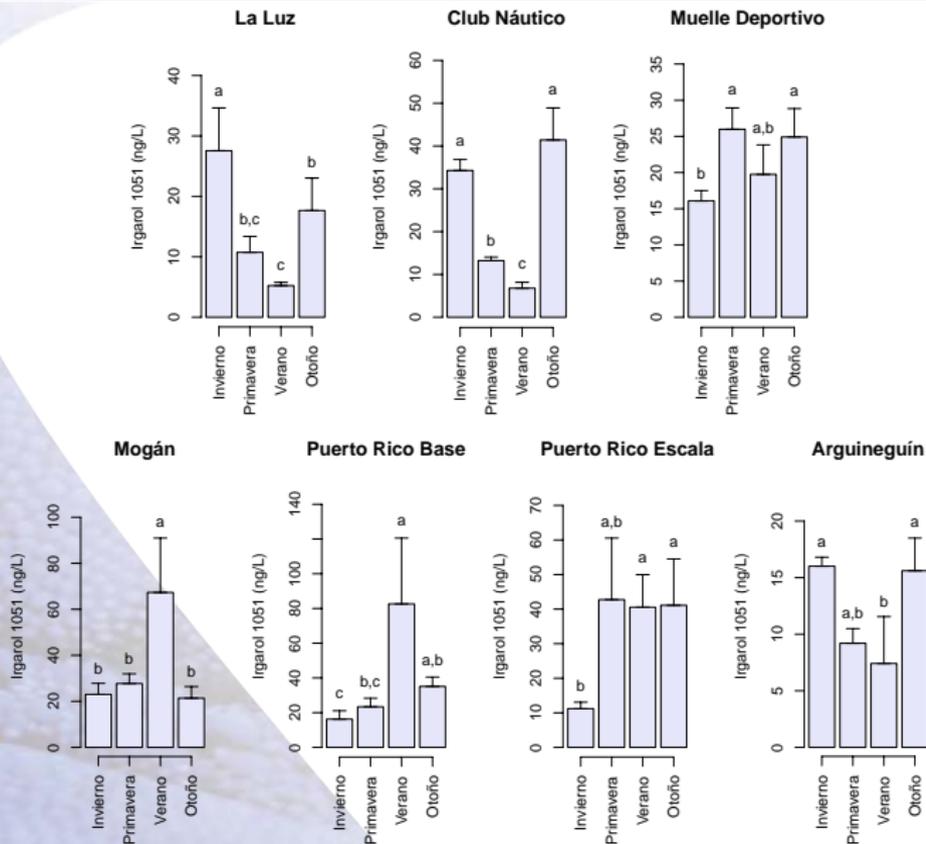


Figura: Irgarol 1051, comparación entre puertos.

- Puertos deportivos.
- Puerto de La Luz y Puerto de Arguineguín (<15ng/L).



## Muestras, mayo 2008-mayo 2009 (LC-MS/MS)

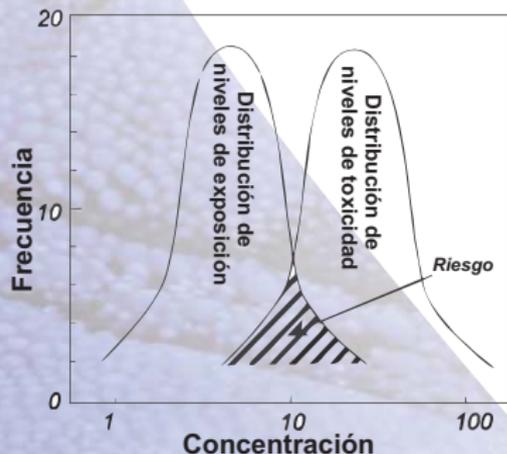


**Figura:** Irgarol 1051, comportamiento estacional.



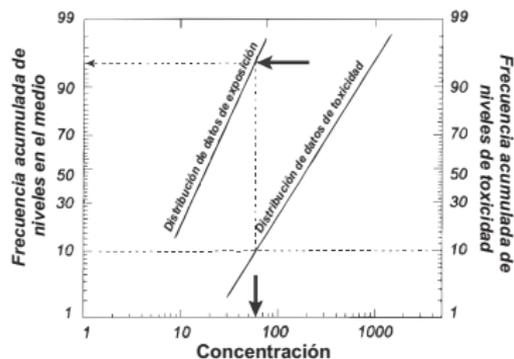
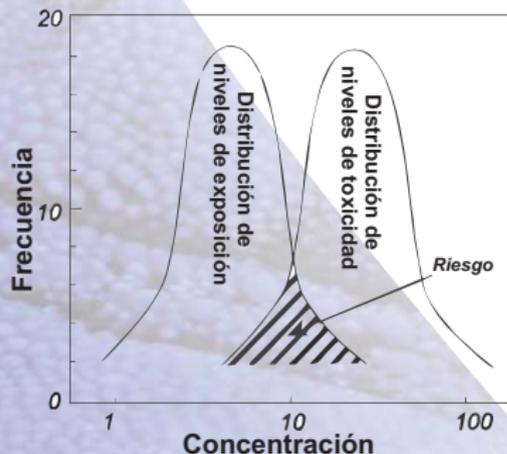
# Evaluación probabilística del riesgo ecológico, PRA

- Implementado por EPA.
- Medida más realista del riesgo.
- Evaluación sobre poblaciones, comunidades y ecosistemas.
- Empleo de umbrales 5 y 10.
- Empleo del área bajo la curva de probabilidad conjunta (JPC).



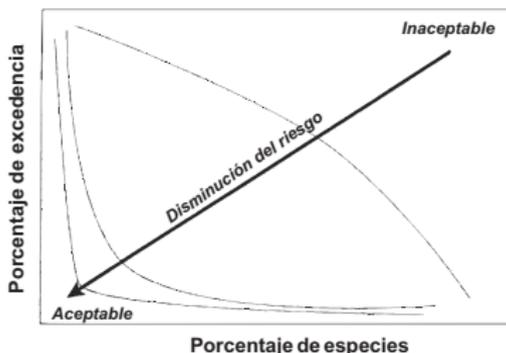
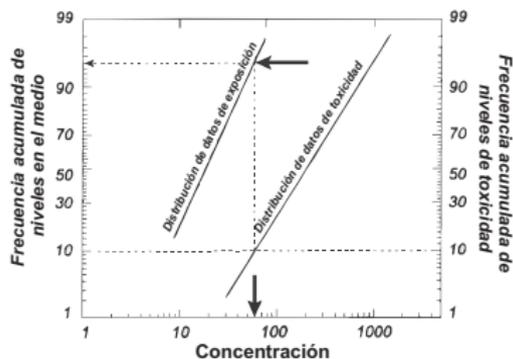
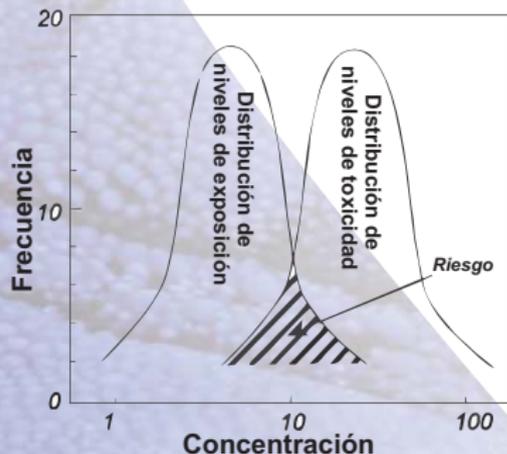
# Evaluación probabilística del riesgo ecológico, PRA

- Implementado por EPA.
- Medida más realista del riesgo.
- Evaluación sobre poblaciones, comunidades y ecosistemas.
- Empleo de umbrales 5 y 10.
- Empleo del área bajo la curva de probabilidad conjunta (JPC).

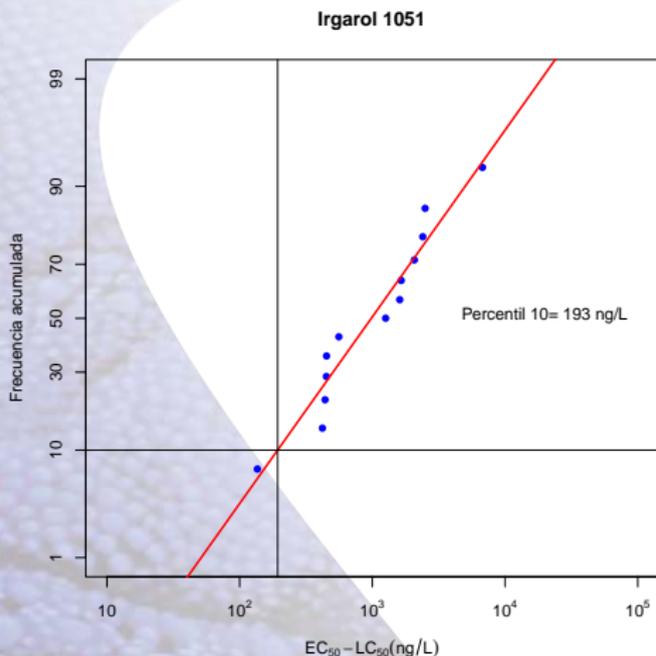


# Evaluación probabilística del riesgo ecológico, PRA

- Implementado por EPA.
- Medida más realista del riesgo.
- Evaluación sobre poblaciones, comunidades y ecosistemas.
- Empleo de umbrales 5 y 10.
- Empleo del área bajo la curva de probabilidad conjunta (JPC).



## Evaluación probabilística del riesgo ecológico, PRA



**Datos de exposición: mayo2008-mayo2009**

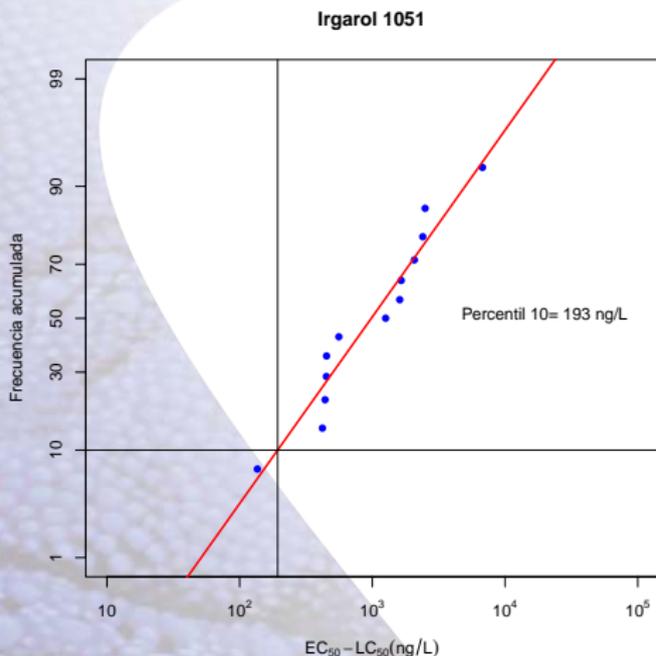
**Datos de toxicidad**

- Grupo sensible: autótrofos acuáticos.
- Irgarol 1051.  
Hall et al.,2009⇒10 %= 193 ng/L.  
Landa et al.,2009⇒10 %= 297 ng/L.
- Diurón.  
Landa et al.,2009⇒10 %= 4850 ng/L.

**Figura:** Datos de toxicidad, cálculo del percentil 10.



## Evaluación probabilística del riesgo ecológico, PRA



**Datos de exposición: mayo2008-mayo2009**

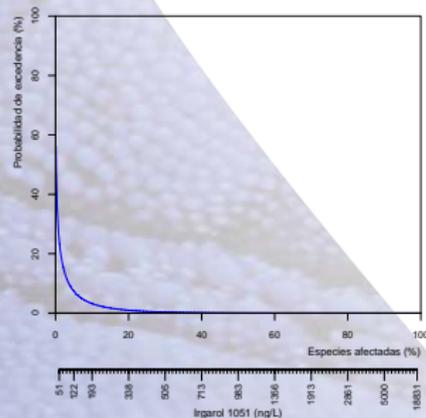
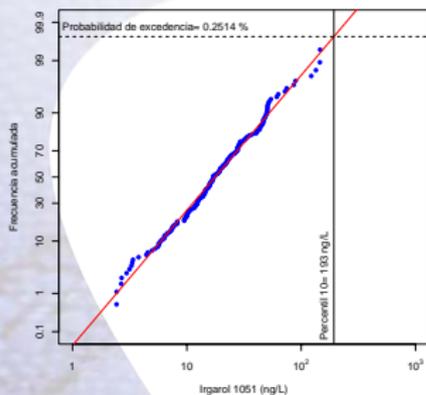
### Datos de toxicidad

- Grupo sensible: autótrofos acuáticos.
- Irgarol 1051.  
Hall et al.,2009⇒10 %= 193 ng/L.  
Landa et al.,2009⇒10 %= 297 ng/L.
- Diurón.  
Landa et al.,2009⇒10 %= 4850 ng/L.

**Figura:** Datos de toxicidad, cálculo del percentil 10.



## Evaluación probabilística del riesgo ecológico, PRA



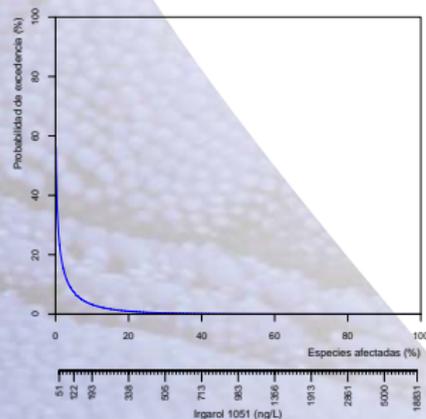
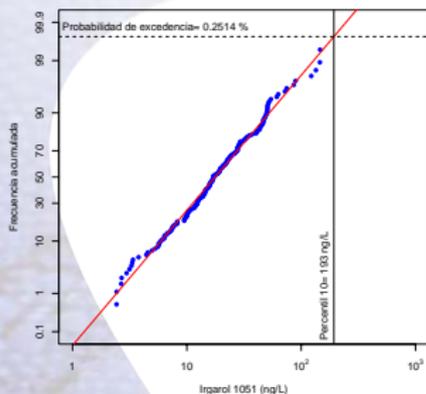
## Diurón

- Probabilidades de excedencia <0.01 %.
- Italia hasta 5.49 %.
- Áreas bajo curvas <0.01 %.

Figura: Probabilidad de excedencia y JPC.



# Evaluación probabilística del riesgo ecológico, PRA



## Diurón

- Probabilidades de excedencia  $<0.01\%$ .
- Italia hasta 5.49%.
- Áreas bajo curvas  $<0.01\%$ .

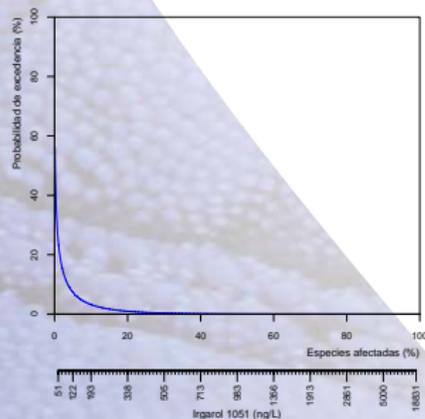
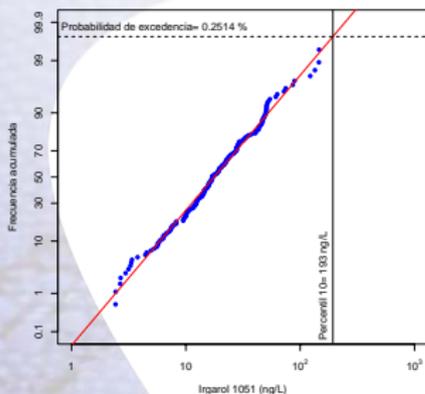
## Irgarol 1051

- Probabilidades de excedencia (10%)  $<3.5\%$ .
- Puerto R Escala, 3.2% (Hall y col.).
- Años 90, puertos deportivos europeos, hasta 24%.
- Áreas bajo curvas  $<2\%$ .

Figura: Probabilidad de excedencia y JPC.



# Evaluación probabilística del riesgo ecológico, PRA



## Diurón

- Probabilidades de excedencia  $<0.01$  %.
- Italia hasta 5.49 %.
- Áreas bajo curvas  $<0.01$  %.

## Irgarol 1051

- Probabilidades de excedencia (10 %)  $<3.5$  %.
- Puerto R Escala, 3.2 % (Hall y col.).
- Años 90, puertos deportivos europeos, hasta 24 %.
- Áreas bajo curvas  $<2$  %.

**Riesgo aceptable**

Figura: Probabilidad de excedencia y JPC.



# Índice

## 1 Introducción

- Compuestos antiincrustantes
- Técnicas de extracción y determinación
- Objetivos

## 2 Experimental

- Aparatos
- Muestreo

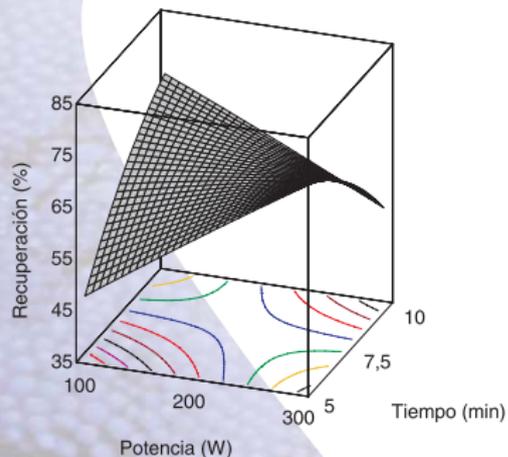
## 3 Resultados y discusión

- Aguas
  - Optimización de una metodología mediante SPE
  - Determinación de biocidas en muestras agua de mar
- Sedimentos
  - Optimización de una metodología mediante MAE-SPE
  - Determinación de biocidas en muestras de sedimentos marinos

## 4 Conclusiones



# Parámetros MAE-SPE



Masa: 1g de muestra.

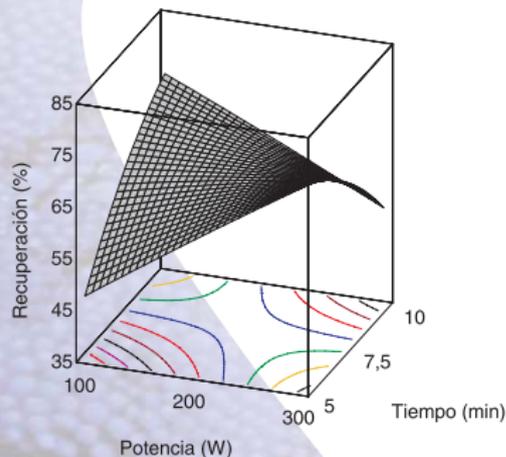
## Ensayos prelimiaries

- MAE disolvente: metanol.
- Dilución: 1/10 (metanol/agua, v/v). Evitar competencias con fase sólida. Preconcentración a 1 mL.

**Figura:** Superficie de respuesta para el TCMTB.



# Parámetros MAE-SPE



**Figura:** Superficie de respuesta para el TCMTB.

Masa: 1g de muestra.

## Ensayos prelimiares

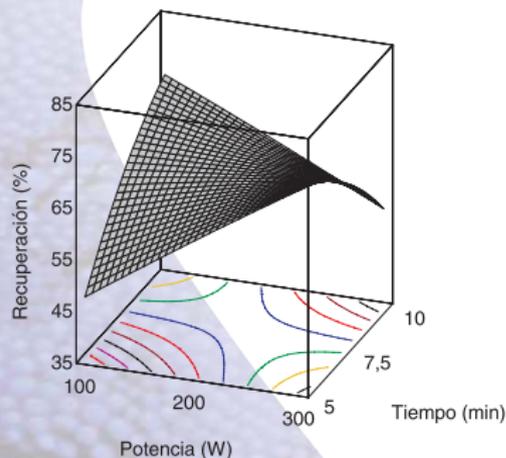
- MAE disolvente: metanol.
- Dilución: 1/10 (metanol/agua, v/v). Evitar competencias con fase sólida. Preconcentración a 1 mL.

## Diseño factorial

- Factores principales
  - Potencia, tiempo y volumen. Diseño factorial  $3^2$ .
  - Potencia y tiempo  $\Rightarrow$  temperatura.
  - Volumen: 10 mL.



# Parámetros MAE-SPE



**Figura:** Superficie de respuesta para el TCMTB.

Masa: 1g de muestra.

## Ensayos prelimiares

- MAE disolvente: metanol.
- Dilución: 1/10 (metanol/agua, v/v). Evitar competencias con fase sólida. Preconcentración a 1 mL.

## Diseño factorial

- Factores principales
  - Potencia, tiempo y volumen. Diseño factorial  $3^2$ .
  - Potencia y tiempo  $\Rightarrow$  temperatura.
  - Volumen: 10 mL.
- Superficies de respuesta
  - Potencia y tiempo. Diseño factorial  $2^3$ .
  - Potencias y tiempos intermedios.
  - 200 W y 6 min.



# Parámetros analíticos MAE-SPE-LC-MS/MS

Tabla: Parámetros analíticos obtenidos mediante MAE-SPE-LC-MS/MS.

---

Compuesto
-----------

---

<i>Diurón</i>
<i>TCMTB</i>
<i>Irgarol 1051</i>
<i>Diclofluanid</i>

---

<sup>a</sup>Recuperación (n=6, 10 ng/g).

<sup>b</sup>Desviación estándar relativa (n=6, 10 ng/g).

<sup>c</sup>Límite de detección. (S/N=3).

<sup>d</sup>Límite de cuantificación. (S/N=10).



# Parámetros analíticos MAE-SPE-LC-MS/MS

Tabla: Parámetros analíticos obtenidos mediante MAE-SPE-LC-MS/MS.

Compuesto	Recup. <sup>a</sup> (%)	R.S.D. <sup>b</sup> (%)
<i>Diurón</i>	99.7	5.4
<i>TCMTB</i>	79.3	3.3
<i>Irgarol 1051</i>	84.3	4.9
<i>Diclofluanid</i>	76.1	6.5

<sup>a</sup>Recuperación (n=6, 10 ng/g).

<sup>b</sup>Desviación estándar relativa (n=6, 10 ng/g).

<sup>c</sup>Límite de detección. (S/N=3).

<sup>d</sup>Límite de cuantificación. (S/N=10).



# Parámetros analíticos MAE-SPE-LC-MS/MS

**Tabla:** Parámetros analíticos obtenidos mediante MAE-SPE-LC-MS/MS.

Compuesto	Recup. <sup>a</sup> (%)	R.S.D. <sup>b</sup> (%)	L.O.D. <sup>c</sup> (ng/g)	L.O.Q. <sup>d</sup> (ng/g)
<i>Diurón</i>	99.7	5.4	0.2	0.7
<i>TCMTB</i>	79.3	3.3	0.3	1.0
<i>Irgarol 1051</i>	84.3	4.9	0.1	0.4
<i>Diclofluanid</i>	76.1	6.5	0.3	1.0

<sup>a</sup>Recuperación (n=6, 10 ng/g).

<sup>b</sup>Desviación estándar relativa (n=6, 10 ng/g).

<sup>c</sup>Límite de detección. (S/N=3).

<sup>d</sup>Límite de cuantificación. (S/N=10).

- Adecuados para la determinación en muestras.



# Muestras

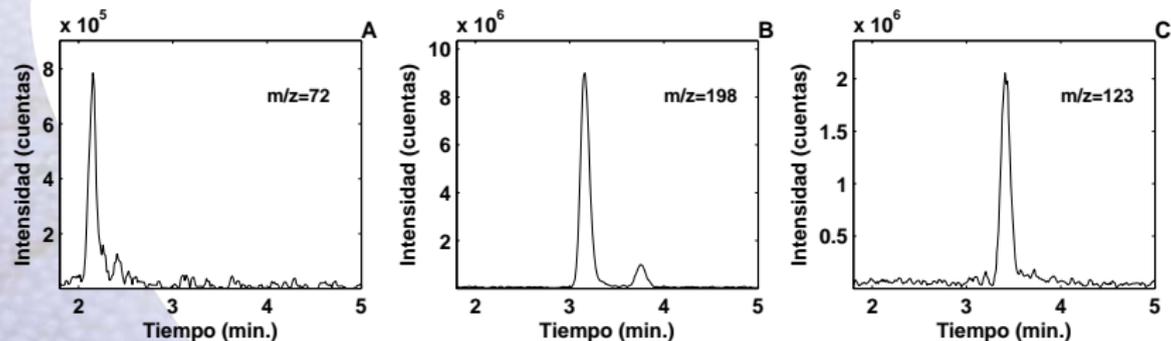
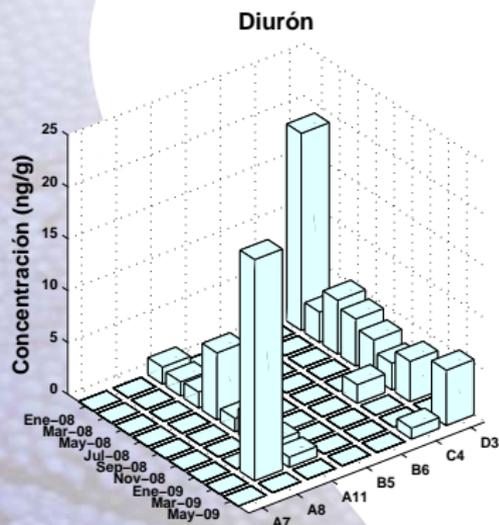


Figura: Cromatograma de los iones de cuantificación, muestra D3 (Arguineguín, Mayo 2009)

- Presencia de Diurón (A), Irgarol 1051 (B) y Diclofluanid (C).



# Muestras -Diurón

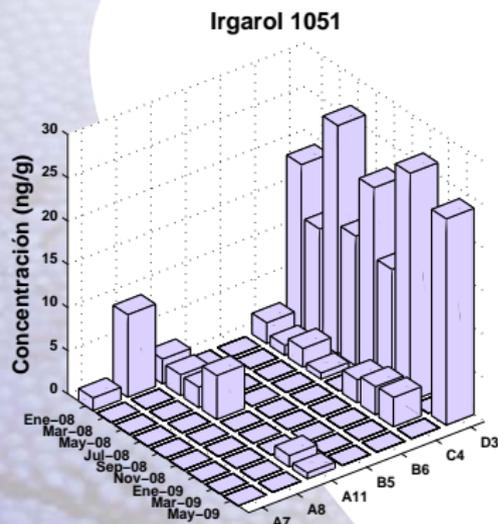


- Concentraciones de hasta 21.3ng/g.
- Relativamente soluble en agua.
- Menores concentraciones que los otros biocidas.
- Menores concentraciones que en otras áreas geográficas.
- Presencia asidua en el Muelle Deportivo y en el puerto de Arguineguín.

**Figura:** Concentraciones de Diurón halladas en los sedimentos recolectados.



# Muestras-Irgarol 1051

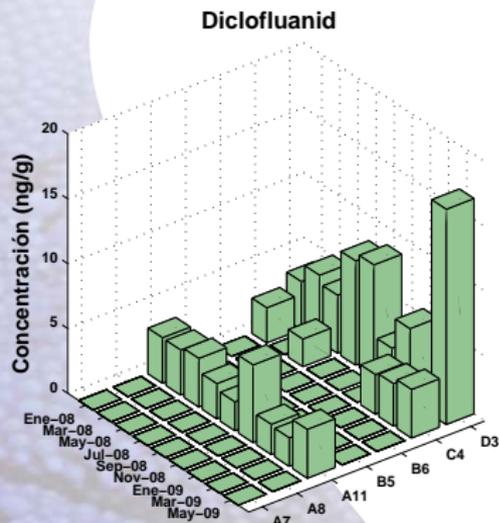


- Concentraciones de hasta 23.9ng/g.
- Relativamente soluble en agua. Menor solubilidad que el Diurón.
- Menores concentraciones que en otras áreas geográficas. Similares a las determinadas en España.
- Presencia asidua en el Muelle Deportivo, en el puerto de Arguineguín y en Puerto Rico.

**Figura:** Concentraciones de Irgarol 1051 halladas en los sedimentos recolectados.



# Muestras-Diclofluánid



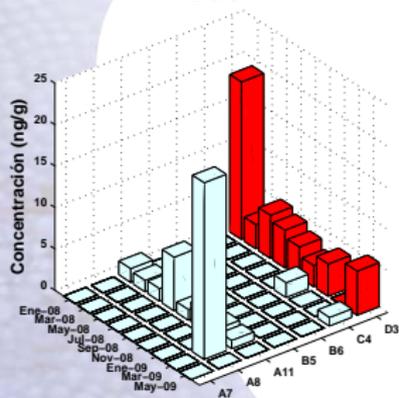
- Concentraciones de hasta 16.6ng/g.
- Elevada adsorción sobre el material particulado.
- Rápida degradación en medio básico.
- Menores concentraciones que en otras áreas geográficas. Similares a las determinadas en España.
- Presencia asidua en el Muelle Deportivo, en el puerto de Arguinegún y en Puerto Rico.

**Figura:** Concentración de Diclofluánid en sedimentos.

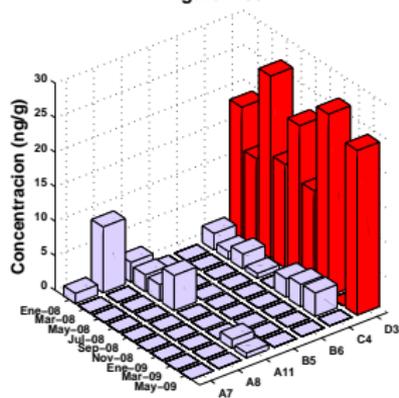


# Muestras

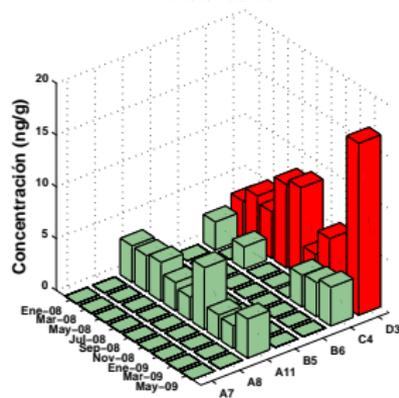
Diurón



Irgarol 1051



Diclofluanid



## Presencia de partículas de pintura

- Proximidad del punto de muestreo al área de servicios.



# Índice

## 1 Introducción

- Compuestos antiincrustantes
- Técnicas de extracción y determinación
- Objetivos

## 2 Experimental

- Aparatos
- Muestreo

## 3 Resultados y discusión

- Aguas
  - Optimización de una metodología mediante SPE
  - Determinación de biocidas en muestras agua de mar
- Sedimentos
  - Optimización de una metodología mediante MAE-SPE
  - Determinación de biocidas en muestras de sedimentos marinos

## 4 Conclusiones



# Conclusiones

## Conclusiones



# Gracias por la atención prestada

